

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

B49

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **01023154 A**(43) Date of publication of application: **25.01.89**

(51) Int. Cl.

**G01N 27/46****G01N 27/38****// G01N 27/30**(21) Application number: **62179813**(71) Applicant: **DAIKIN IND LTD**(22) Date of filing: **17.07.87**(72) Inventor: **NAGATA YASUHIRO**(54) **ELECTRODE REFRESHING DEVICE FOR  
BIOSENSOR**

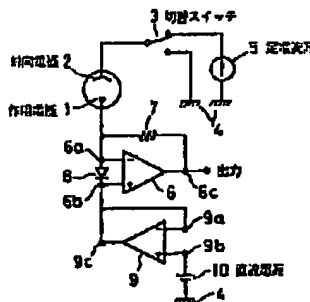
which the energization disturbing material is removed.

COPYRIGHT: (C)1989,JPO&amp;Japio

(57) Abstract

**PURPOSE:** To remove an energization disturbing material formed on the surface of a working electrode by supplying constant current for refreshing to the work electrode.

**CONSTITUTION:** A selector switch 3 is operated to connect a counter electrode 2 and an earth 4 directly and to set an earth state, by which a prescribed forward bias voltage is impressed between the working electrode 1 and the electrode 2. Namely, the DC voltage formed by a DC power supply 10 is supplied through a buffer amplifier 9 and is supplied to a non-inverted input terminal 6b of an operational amplifier 6 for current-voltage conversion. A diode 8 is, therefore, reverse biased and a DC voltage is impressed on the electrode 2 via an inverted input terminal 6a by the virtual grounding between the inversion and non-inversion input terminals of the amplifier 6. A soln. to be measured is in this state dropped on an enzyme electrode in this state and the signal corresponding to the concn. of glucose is outputted, by



## ⑫ 公開特許公報(A)

昭64-23154

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup> 識別記号 庁内整理番号 ③ 公開 昭和64年(1989)1月25日  
 G 01 N 27/46 M-7363-2G  
 27/38 Z-7363-2G  
 // G 01 N 27/30 E-7363-2G 審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

④ 発明の名称 バイオセンサの電極リフレッシュ装置

⑥ 特 願 昭62-179813

⑦ 出 願 昭62(1987)7月17日

⑧ 発 明 者 永 田 保 広 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2 ダイキン工業株式会社滋賀製作所内

⑨ 出 願 人 ダイキン工業株式会社 大阪府大阪市北区中崎西2丁目4番12号 梅田センタービル

⑩ 代 理 人 弁理士 津川 友士

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

バイオセンサの電極リフレッシュ装置

## 2. 特許請求の範囲

1. 生理活性物質が固定された作用電極と対向電極との間に所定の順バイアスを供給することにより対象物質の測定を行なうバイオセンサにおいて、作用電極に対してリフレッシュ用の定電流を供給するリフレッシュ用定電流供給手段を有していることを特徴とするバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

2. リフレッシュ用定電流供給手段が、リフレッシュ用の定電流供給用の電源と、所定の順バイアス供給状態、およびリフレッシュ用の定電流供給状態を選択するスイッチング手段とから構成されている上記特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

3. リフレッシュ用定電流供給手段が、両

電極間に印加されるリフレッシュ電圧が所定の閾値に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものである上記特許請求の範囲第1項、または第2項に記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

4. リフレッシュ用定電流供給手段が、所定の時間に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものである上記特許請求の範囲第1項、または第2項に記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

5. 作用電極が、Ptからなるものであるとともに、対向電極がAgからなるものであり、リフレッシュ用定電流供給手段が、測定電流の約1.0倍以上のリフレッシュ用定電流を供給するものである上記特許請求の範囲第1項から第4項の何れかに記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

## 3. 発明の詳細な説明

## &lt;産業上の利用分野&gt;

この発明はバイオセンサの電極リフレッシュ装置に関し、さらに詳細に言えば、非測定時に電極に対して測定時と異なる極性のバイアスを与えるための電極リフレッシュ装置に関する。

## &lt;従来の技術、および発明が解決しようとする問題点&gt;

従来から、非常に複雑な有機化合物等を高感度、かつ高選択的に検知することができるという特質に着目して、種々のバイオセンサの研究が行なわれている。

このようなバイオセンサの代表的なものとして、電極に生理活性物質を固定しておき、所定の順バイアスを与えた状態で電極から取出される電気信号に基づいて測定対象物質の存在の有無、存在量等を検知するもの、例えば、Ptで作用電極、および対向電極を形成し、酵素膜に固定された酵素と対象物質との反応により生成される $H_2O_2$ を $H_2O_2$ 透過膜を通して電極表面に導き、透過し

- 3 -

させ、再び高感度の測定動作を行なうことができる。

しかし、上記の電極リフレッシュ装置においては、一定の逆バイアスを印加した状態で電極リフレッシュを行なわせた場合においても、常に一定のリフレッシュ効果、即ち、作用電極の活性復元が得られるという保証がなく、リフレッシュ効果が異なれば、リフレッシュ動作終了状態における作用電極の活性状態が異なることになるのであるから、取出される電気信号のレベルが変化してしまうことになるという問題がある。

さらに詳細に説明すると、上記リフレッシュ動作は、作用電極の表面に形成された通電妨害物質を除去する動作であり、本件発明者が通電妨害物質除去動作について研究を行なった結果、通電妨害物質除去は通電電流に基づいて行なわれていることを見出した。したがって、印加する逆バイアスを一定に保持しておいても、通電妨害物質が抵抗として作用するので、通電電流が通電妨害物質の厚みのばらつき、および通電継続時間等により変

- 5 -

た $H_2O_2$ の量に対応する電気信号を取出して測定対象物質の存在の有無、存在量等を検知するものが提案されている。具体的には、対向電極を基準として作用電極に0.6Vの順バイアス電圧を印加している。

また、このようなバイオセンサにおいては、電極に順バイアスを与えた状態での対象物質測定動作を継続することにより、作用電極表面に酸化膜等の通電妨害膜が形成され、作用電極の活性が低下するので、ある程度の回数の測定動作を行なった後、測定動作を行なわない期間に逆バイアスを与えることにより（上記の具体例に対応させれば、対向電極を基準として、作用電極に-0.6V程度の逆バイアス電圧を印加することにより）、通電妨害膜を除去し、作用電極の活性を復元させ、取出される電気信号のレベルを再び元のレベルにまで復元させることが提案されている（特開昭60-155959号公報参照）。

そして、このように非測定時に所定の逆バイアスを与えることにより、低下した測定感度を回復

- 4 -

化し（例えば、第6図参照）、作用電極の表面全域にわたる均一な通電妨害物質除去効果を達成することができない場合が多くなってしまう。また、通電妨害物質の最下層近傍には、ヘルムホルツ層が存在するのであるから、逆バイアスを一定に保持しておいた場合には、通電電流が著しく小さくなってしまい、ヘルムホルツ層よりも下層に位置する通電妨害物質の除去が不可能になってしまい、この結果、作用電極の表面における活性復元が不十分になってしまうという問題がある。

## &lt;発明の目的&gt;

この発明は上記の問題点に鑑みてなされたものであり、作用電極の表面に生成された通電妨害物質の厚み等に拘わらず、通電妨害物質の除去を確実に行なわせることができるバイオセンサの電極リフレッシュ装置を提供することを目的としている。

## &lt;問題点を解決するための手段&gt;

上記の目的を達成するための、この発明の電極リフレッシュ装置は、作用電極に対してリフレッ

- 6 -

シュ用の定電流を供給するリフレッシュ用定電流供給手段を有しているものである。

但し、上記リフレッシュ用定電流供給手段としては、リフレッシュ用の定電流供給用の電源と、所定の順バイアス供給状態、およびリフレッシュ用の定電流供給状態を選択するスイッチング手段とから構成されていることが好ましい。そして、上記リフレッシュ用定電流供給手段としては、両電極間に印加されるリフレッシュ電圧が所定の閾値に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものであってもよく、或は、所定の時間に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものであってもよい。

また、上記作用電極が、Ptからなるものとするとともに、対向電極がAgからなるものであり、リフレッシュ用定電流供給手段が、測定電流の約10倍以上のリフレッシュ用定電流を供給するものであることが好ましい。

#### <作用>

以上の構成の電極リフレッシュ装置であれば、

— 7 —

けることにより、確実に除去することができ、作用電極表面における活性を十分に復元させることができる。

そして、上記リフレッシュ用定電流供給手段が、リフレッシュ用の定電流供給用の電源と、所定の順バイアス供給状態、およびリフレッシュ用の定電流供給状態を選択するスイッチング手段とから構成されている場合には、スイッチング手段を動作させるだけで、簡単に、順バイアス供給による測定動作遂行状態、および定電流供給によるリフレッシュ動作遂行状態を選択することができる。

また、上記リフレッシュ用定電流供給手段が、両電極間に印加されるリフレッシュ電圧が所定の閾値に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものである場合には、通電妨害物質の残存量に基いて定まるリフレッシュ電圧によりリフレッシュ動作を遂行すべきであるか否かを制御するので、通電妨害物質の生成量に拘わらず、確実にリフレッシュ効果を達成することができる。

さらに、上記リフレッシュ用定電流供給手段が、

— 9 —

生理活性物質が固定された作用電極と対向電極との間に所定の順バイアスを供給した状態において、生理活性物質と対象物質との反応の結果生成され、或は消失された物質の量に対応する電気信号が上記両電極間に生成される。

そして、対象物質の濃度測定を行なわない場合には、リフレッシュ用定電流供給手段により上記作用電極に対して、通電妨害物質の除去を行なわせるための定電流を供給するので、リフレッシュ動作期間中は一定の通電妨害物質除去効果を発揮させることができ、作用電極表面における活性を十分に復元させて、再び高精度に測定対象物質の測定を行なうことができる状態を再現することができる。

さらに詳細に説明すると、この発明においては、リフレッシュ動作期間中、一定のリフレッシュ電流を供給し続けることができるのであるから、通電妨害物質の除去効率を一定に保持し続けることができ、しかも、ヘルムホルツ層の下層に位置する通電妨害物質についても、一定電流を供給し続

— 8 —

所定の時間に達するまでの間のみリフレッシュ用の定電流を供給するものである場合には、計時手段のみによりリフレッシュ動作遂行時間を制御することができ、構成を簡素化することができる。

さらには、上記作用電極が、Ptからなるものであるとともに、対向電極がAgからなるものであり、リフレッシュ用定電流供給手段が、測定電流の約10倍以上のリフレッシュ用定電流を供給するものである場合には、高価なPtの使用量を少なくして、全体として安価にすることができるとともに、測定電流の約10倍以上の電流を継続的に供給することにより、迅速に、かつ電極に悪影響を及ぼすことなく、リフレッシュ動作を行なわせることができる。

#### <実施例>

以下、実施例を示す添付図面によって詳細に説明する。

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図であり、Ptからなる作用電極(1)と、Agからなる対向電極(2)のみを有す

— 10 —

る、いわゆる2電極式の酵素電極に対するリフレッシュを行なわせるようにしている。

上記対向電極(2)は、切替スイッチ(3)を介してアース(4)、およびリフレッシュ用の定電流源(5)の一端に選択的に接続されており、上記定電流源(5)の他端がアース(4)に接続されている。また、測定信号取出し用の電流-電圧変換用オペアンプ(6)の反転入力端子(6a)を上記作用電極(1)と接続しており、出力端子(6c)と反転入力端子(6a)との間に電流-電圧変換用抵抗(7)を接続しているとともに、反転入力端子(6a)と非反転入力端子(6b)との間に、アノードが反転入力端子側となるようにダイオード(8)を接続している。そして、非反転入力端子(6b)とアース(4)との間に直流電源(9)を接続し、出力端子(6c)と反転入力端子(6a)とを直接接続したバッファアンプ(9)の出力端子(9c)を上記電流-電圧変換用オペアンプ(6)の非反転入力端子と接続している。

第2図は上記電極リフレッシュ装置が適用される酵素電極の一例を示す縦断面図であり、電極本

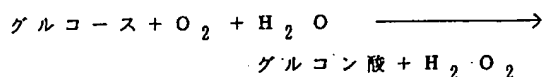
- 1 1 -

用オペアンプ(6)の非反転入力端子(6b)に供給しているのであるから、ダイオード(8)が逆バイアス状態になり、対向電極(2)には、電流-電圧変換用オペアンプ(6)の反転・非反転入力端子間の仮想接地により、反転入力端子(6a)を介して上記直流電圧が印加される。即ち、作用電極(1)が順バイアス状態になる。

そして、この状態において測定対象溶液を酵素電極に滴下すればよく、以下のようにしてグルコース濃度に対応する信号を出力することができる。

上記滴下された測定対象溶液は、拡散制限膜(14)によりグルコースの透過がある程度制限された状態で固定化GOD膜(13)に導かれ、

G O D



で示される酵素反応が行なわれる結果、存在するグルコース濃度に対応する量の $\text{H}_2\text{O}_2$ が生成される。そして、生成された $\text{H}_2\text{O}_2$ が、過酸化水素選択透過膜(12)を通して下地電極の表面に導か

- 1 3 -

体(11)の所定位置に作用電極(1)を設けているとともに、作用電極(1)の全外周を包囲するリング状の対向電極(2)を設けている。そして、上記作用電極(1)、および対向電極(2)を設けている側の面を凸面にしているとともに、凸面に沿うように、過酸化水素選択透過膜(12)、グルコースオキシダーゼ(以下、GODと略称する)を固定した固定化GOD膜(13)、およびセロハンからなる拡散制限膜(14)をこの順に設けている。尚、(15)は上記作用電極(1)、対向電極(2)と接続された信号取出し端子である。

上記の構成のグルコース濃度センサの動作は次のとおりである。

グルコース濃度の測定を行なう場合には、切替スイッチ(3)を切替操作することにより対向電極(2)とアース(4)とを直接接続し、接地状態にすることにより、作用電極(1)と対向電極(2)との間に所定の順バイアス電圧を印加する。さらに詳細に説明すれば、直流電源(9)により生成されている直流電圧をバッファアンプ(9)を通して上記電流-電圧変換

- 1 2 -

れ、しかも上記順バイアス電圧が印加されているので、作用電極(1)の表面において酸化反応が行なわれると同時に作用電極(1)を通して $\text{H}_2\text{O}_2$ の量に対応する電流が流入する。この電流は、電流-電圧変換用オペアンプ(6)の反転入力端子(6a)に供給されるのであるから、出力端子(6c)から、上記電流に比例した電圧信号に順バイアスによるオフセット電圧が重畳された電圧信号を取出すことができる。

したがって、その後は、上記電流に比例する電圧信号のみを抽出し、一次微分を施して、一次微分値のピーク値を検出し、必要な処理を行なうことによりグルコース濃度信号を得ることができる。

上記のようにしてグルコース濃度測定動作が行なわれた後は、切替スイッチ(3)を切替操作することにより、対向電極(2)を定電流源(5)と接続することにより、アース(4)を通して作用電極(1)を逆バイアス状態とする。

したがって、この逆バイアス状態においては、対向電極(2)から作用電極(1)に向かって電流が流れ、

- 1 4 -

作用電極(1)の表面に形成された酸化膜の還元が行なわれることにより、元の活性状態に復帰させられる。この場合において、対向電極(2)から作用電極(1)に向かって流れる電流はリフレッシュ動作期間中一定電流値に保持され続けるのであるから、電流-電圧変換用オペアンプ(6)の出力が飽和し、反転入力端子(8a)の電圧が非反転入力端子(8b)の電圧よりも大きくなった状態において、ダイオード(3)が順バイアス状態になり、導通するので、リフレッシュ電流がダイオード(3)によりバイパスされた状態になり、所定のリフレッシュ電流が作用電極(1)に流れる状態を確保し、確実な作用電極(1)のリフレッシュを行なわせることができる。

また、以上の説明においては、リフレッシュ電流の値について何ら説明していないが、測定電流の約10倍に設定しておくことにより、比較的短時間で十分なリフレッシュ効果を達成させることができる。具体的には、グルコース濃度が150 mg/dlの場合に、作用電極(1)の直径が1.7 mmである条件下において、約10  $\mu$ Aのリフレ

- 15 -

したがって、この実施例の場合にも、上記実施例と同様に測定対象物質の濃度測定、および作用電極(1)のリフレッシュを選択的行なわせることができる。

そして、リフレッシュ動作遂行時間の制御については、第4図に示すように、通電妨害物質の残存量に対応して増加する定電流源(5)の端子間電圧を常時所定の基準電圧と比較し、定電流源(5)の端子間電圧が所定の基準電圧と等しくなった時点でソレノイド(17)を駆動して切替スイッチ(3)を復元させることにより行なわれるのであるから、通電妨害物質の生成量に対応する最適なリフレッシュ時間を設定することができる。

第5図はさらに他の実施例を示す電気回路図であり、第1図の実施例と異なる点は、作用電極(1)と対向電極(2)との他に参照電極(18)を設けた点、および出力端子(19c)が切替スイッチ(3)を介して対向電極(2)と接続され、反転入力端子(19a)が参照電極(18)と接続され、非反転入力端子(19b)がアース(4)と接続されたオペアンプ(19)を設けた点

- 17 -

ッシュ電流を供給することにより、良好なリフレッシュ効果を確認することができた。

尚、上記リフレッシュ動作を継続する時間としては、作用電極(1)の表面に生成された酸化膜の厚み等により定まる時間であることが好ましいが、測定対象物質、およびリフレッシュを行なう頻度を予め定めておけば、図示しないタイマ等により定められた所定時間が経過した時点で切替スイッチ(3)を再び切替動作させ、自動的にリフレッシュ動作を停止させることができ、この状態において、作用電極(1)の活性を十分に復元させた状態とすることができる。

第3図は他の実施例を示す電気回路図であり、第1図の実施例と異なる点は、定電流源(5)の端子間電圧が比較入力端子に供給される比較回路(16)を有しているとともに、上記端子間電圧が所定の基準電圧に達した時点で比較回路(16)から出力される比較結果信号を入力として切替スイッチ(3)を復元させるソレノイド(17)を有している点のみであり、他の部分の構成は同一である。

- 16 -

のみである。

したがって、この実施例の場合には、オペアンプ(19)により作用電極(1)と参照電極(18)との間の電位を一定に保持したままで測定対象物質の濃度測定を行なうことができる関係上、対向電極(2)を余り大きくしなくても正確な濃度測定を行なうことができる。また、リフレッシュ動作については、上記実施例と同様に行なうことができる。

尚、この発明は上記の実施例に限定されるものではなく、例えば電極の種類に対応して動作用の順バイアス、およびリフレッシュ用の定電流を最適値に設定することが可能である他、上記実施例においてダイオード(3)に代えてスイッチングトランジスタを使用することが可能であり、さらに、切替スイッチ(3)として互に逆の状態に制御されるスイッチング素子を使用することが可能である他、この発明の要旨を変更しない範囲内において種々の設計変更を施すことが可能である。

<発明の効果>

以上のようにこの発明は、バイオセンサの電極

- 18 -

に対して定電流を供給することにより作用電極のリフレッシュを行なわせるので、短時間で効率よく通電妨害物質を除去することができ、作用電極の活性回復を高精度に行なわせることができるという特有の効果を奏する。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図、

第2図は電極の一例を示す概略図、

第3図は他の実施例を示す電気回路図、

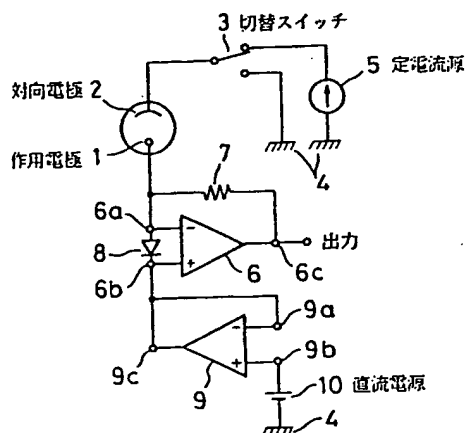
第4図はリフレッシュに伴う定電流源の端子間電圧の変化を示す図、

第5図はさらに他の実施例を示す電気回路図、

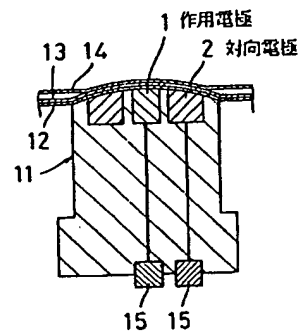
第6図は従来のリフレッシュ動作に伴うリフレッシュ電流の変化を示す図。

- (1) … 作用電極、(2) … 対向電極、  
(3) … 切替スイッチ、(5) … 定電流源、  
(10) … 直流電源

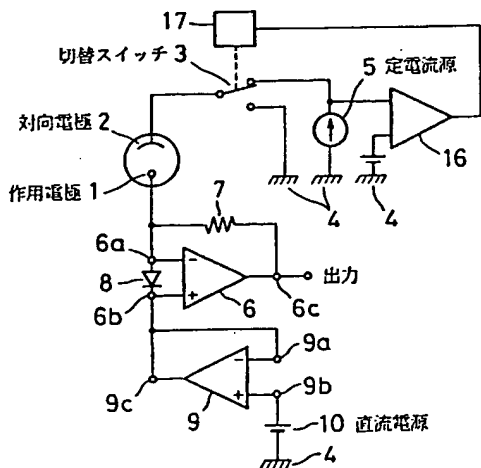
### 第1図



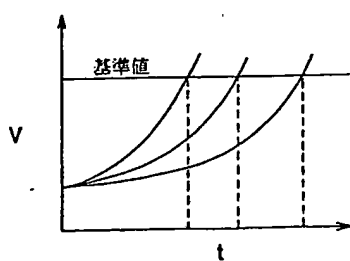
### 第2図



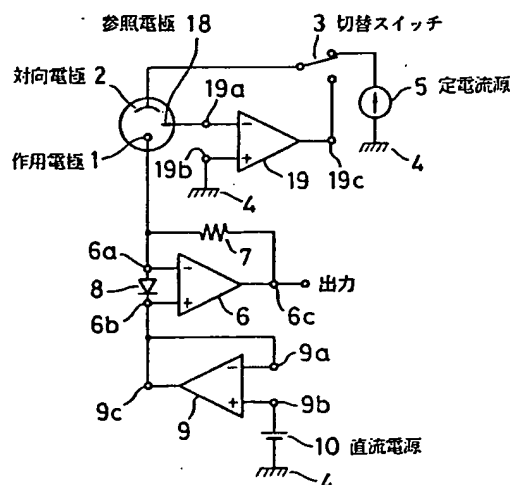
### 第3図



### 第4図



### 第5図



### 第6図

